ELISA IgM HEV

CE

DATA DE REVISÃO: 05/05
MBL 0011-BRA-0

Observação: alterações realçadas.

REF 21160-096T (kit de 96 testes)

NOME E APLICAÇÃO

O TESTE ELISA IgM HEV DA MP Diagnostics (MPD) é uma prova imunoenzimática para a detecção de anticorpos IgM para o vírus da hepatite E (HEV) no soro ou plasma humanos.

DESCRIÇÃO DE SÍMBOLOS USADOS

Os símbolos gráficos usados ou encontrados nos produtos e embalagens **MP Diagnostics** estão indicados a seguir. Estes são os símbolos mais comuns em dispositivos médicos e respectivas embalagens; estes símbolos são explicados com mais detalhes no British and European Standard BS EN 980: 2003.

	Usar até *Sinônimos:* Data de validade	IVD	Dispositivo médico para diagnóstico in vitro
LOT	Código do lote *Sinônimos:* Número do lote Número da remessa	REF	Número de catálogo
	Limites de temperatura		Atenção. Ver Instruções de Uso
	Fabricante	EC REP	Representante Autorizado na Comunidade Européia
	Contém o suficiente para <n> testes		Consulte as instruções de uso
	Não reutilize		

INTRODUÇÃO

As principais epidemias de hepatite não-A, não-B de transmissão entérica (HNANB-TE) ocorrem em regiões em desenvolvimento, como Ásia, antiga União Soviética, América Central e África (1,2). Também foram assinalados casos esporádicos em países desenvolvidos, entre eles Austrália, Reino Unido e Estados Unidos (3,4,5). As ocorrências em países desenvolvidos geralmente estão associadas a viagens a áreas endêmicas.

A evolução da doença é geralmente aguda, com cura espontânea e sem desenvolvimento de seqüelas crônicas. Observa-se, entretanto, alta incidência de mortalidade em gestantes no terceiro trimestre de gravidez - aproximadamente 10 a 20 % (1) - e uma taxa de mortalidade de 1 a 2 % na população em geral, o que é 10 vezes superior à da hepatite A (VHA). Graças à clonagem do agente etiológico da NANBH-TE e à identificação de epítopos comuns ao tipo viral (6,7), foram desenvolvidas ferramentas de diagnóstico específicas para detectar anticorpos contra o vírus da hepatite E (HEV).

Estudos em crianças egípcias de Benha em 1986 revelaram que a exposição anterior ao HEV provoca uma resposta por IgG (8) que pode ser transitória e desaparecer em seis meses, mas que pode por vezes durar até oito anos ou mais, conforme evidenciado em um estudo recente em Taiwan (9). Ficou evidenciado que a resposta por IgM ocorre apenas durante a fase aguda da infecção pelo HEV. Anteriormente, a detecção da resposta aguda à infecção por HEV era realizada pela observação de partículas virais nas fezes de indivíduos infectados, usando imunoeletromicroscopia ou por PCR (10,11). Este método exige equipamento caro e competências técnicas específicas. Além disso, a emissão de partículas virais ocorre geralmente em pequenas quantidades e seu teor pode ser insuficiente para a detecção. O **ELISA IgM HEV da MP Diagnostics** utiliza antígenos recombinantes da região estrutural do genoma do HEV para detectar a presença de anticorpos IgM associados à infecção aguda.

PRINCÍPIOS QUÍMICOS E BIOLÓGICOS DO PROCEDIMENTO

Os poços das tiras de poliestireno da microplaca são revestidos com três antígenos recombinantes do HEV que correspondem às regiões estruturais do vírus da hepatite E. As amostras de soro ou plasma humano, diluídas na solução-tampão de diluição, são incubadas nesses poços revestidos. Os anticorpos anti-HEV, caso presentes, unem-se aos antígenos HEV da fase sólida. Após cuidadosa lavagem dos poços para retirar o material não ligado, adiciona-se anticorpo monoclonal de camundongo anti-IgM humana marcado com peroxidase do rábano. Este anticorpo marcado liga-se a todos os complexos antígeno-anticorpo anteriormente formados e o excesso de anticorpos marcados não ligados é removido por lavagem. Uma solução de substrato contendo 3, 3', 5, 5'-tetramethylbenzidine (TMB) é então adicionada a cada poço. A presença de anticorpos específicos é indicada pelo desenvolvimento de coloração azul após a adição do substrato. A reação é interrompida pela adição de ácido cloridrico. A intensidade da cor é medida em espectrofotômetro a 450 nm e é proporcional à quantidade de anticorpos presentes na amostra.

COMPONENTES DO KIT

	Descrição dos Componentes	Quantidade Fornecida
MICROPLATE	**MICROPLACA HEV** Doze tiras de oito poços por placa, lacradas em bolsas de alumínio com dessecante. Cada poço da microplaca contém proteínas HEV recombinantes adsorvidas. Conservar entre 2°C e 8°C.	1 placa (96 poços)
CONTROL — ⚠	**CONTROLE REATIVO** Soro humano inativado contendo título elevado de anticorpos IgM específicos para HEV. Contém tiomersal e azida sódica como conservantes. Conservar entre 2°C e 8°C.	1 frasco (160 µl)
CONTROL + ⚠	**CONTROLE REATIVO** Soro humano inativado contendo título elevado de anticorpos IgM específicos para HEV. Contém tiomersal e azida sódica como conservantes. Conservar entre 2°C e 8°C.	1 frasco (80 µl)
DILUENT	**DILUENTE** Solução salina com Tris contendo soro caprino normal tratado por calor, soro albumina bovina e estabilizantes. Contém Bronidox™ como conservante. Conservar entre 2°C e 8°C.	1 frasco (100 ml)
WASH PLATE 20X	**CONCENTRADO (20X) PARA LAVAGEM DE PLACAS** Solução-tampão fosfato com Tween-20. Contém cloroacetamida como conservante. Conservar entre 2°C e 8°C.	1 frasco (120 ml)
CONJUGATE IgM T	**CONJUGADO** Anticorpo monoclonal de camundongo anti-IgM humana marcado com peroxidase de rábano. Contém tiomersal a 0,02 % como conservante. Conservar entre 2°C e 8°C.	1 frasco (70 µl)
SUBS TMB	**SUBSTRATO** Solução-tampão contendo 3, 3', 5, 5'-tetramethylbenzidine. Conservar em local escuro entre 2°C e 8°C.	1 frasco (12,5 ml)
SOLN STOP HCl 1N ⚠	**SOLUÇÃO DE INTERRUPÇÃO** Solução de ácido cloridrico 1N. Conservar em local escuro entre 2°C e 8°C.	1 frasco (30 ml)
	TAMPAS DAS PLACAS Tampas adesivas para uso durante a incubação das microplacas.	4 unidades
	MANUAL DE INSTRUÇÕES	1 cópia

Bronidox™ é marca registrada da Henkel Chemical Co.

AVISOS E PRECAUÇÕES

1. Para uso exclusivo em diagnóstico *in vitro*.
2. Exclusivamente para uso profissional.
3. Solicitamos consultar a documentação dos produtos para informações sobre componentes potencialmente perigosos.

INFORMAÇÕES DE SAÚDE E SEGURANÇA

⚠ **CUIDADO:** Este kit contém material de origem humana. Nenhum método de teste pode oferecer garantia total que os produtos de sangue humano não transmitam infecções.

MANUSEIE AS AMOSTRAS E OS CONTROLES REATIVOS E NÃO REATIVOS COMO AGENTES POTENCIALMENTE INFECCIOSOS. Recomenda-se que os componentes e as amostras do teste sejam manuseados de acordo com as boas práticas de laboratório. O descarte deverá ser realizado de acordo com os procedimentos de segurança vigentes.

O ***Controle Reativo*** e o ***Controle Não Reativo*** contêm tiomersal e azida sódica. A azida sódica pode reagir com o cobre e o chumbo usados em alguns sistemas de canalização formando sais explosivos. Embora as quantidades usadas neste kit sejam pequenas, o descarte de materiais contendo azida deve ser feito por lavagem com volumes relativamente grandes de água de forma a evitar a formação de azida metálica no sistema de canalização.

1. Evite a contaminação microbiana dos reagentes ao abrir e retirar alíquotas dos frascos originais.
2. Não pipete com a boca.
3. Manuseie as amostras, as microplacas, os controles reativos e os controles não reativos como agentes potencialmente infecciosos.
4. Use vestuário de laboratório e luvas descartáveis durante a realização do teste. Descarte as luvas em sacos plásticos para descarte de lixo biológico perigoso. A seguir, lave bem as mãos.
5. É altamente recomendável que este teste seja realizado em uma câmara adequada para material biológico perigoso.
6. Mantenha todo o material longe de alimentos e bebidas.
7. Em caso de acidente ou contato com os olhos, lave imediatamente com água em abundância e procure ajuda médica.
8. Consulte imediatamente um médico caso sejam ingeridos materiais contaminados ou haja contato destes com feridas abertas, ou outras soluções de continuidade da pele.
9. Nunca adicione água à Solução de Interrupção.

10. Limpe imediatamente derramamentos de materiais infecciosos com papel absorvente e esfregue imediatamente a área contaminada com solução de hipoclorito de sódio a 1 % antes de continuar o trabalho. O hipoclorito de sódio não deve ser usado em derramamentos que contenham ácidos, a menos que a área seja primeiro enxugada com papel absorvente. O material usado (também as luvas descartáveis) deve ser descartado como material biológico potencialmente perigoso. Não esterilize em autoclave material que contenha hipoclorito de sódio.

11. Antes do descarte, esterilize em autoclave todo o material usado e contaminado a 121°C, 15 psi durante 30 minutos. Alternativamente, descontamine o material em solução de hipoclorito de sódio a 5 % durante 30-60 minutos antes de descartar em sacos para lixo biológico perigoso.

12. Descontamine todos os produtos químicos e reagentes usados adicionando um volume suficiente de hipoclorito de sódio de forma a obter uma concentração final de pelo menos 1 %. Deixe agir durante 30 minutos para garantir uma descontaminação eficiente.

PRECAUÇÕES ANALÍTICAS

1. Para garantir um desempenho perfeito do teste é necessário **SEGUIR À RISCA** os procedimentos descritos neste Manual de Instruções. A inobservância destes procedimentos pode acarretar resultados anômalos.

2. **NÃO MODIFIQUE NEM SUBSTITUA REAGENTES DE UM LOTE DO KIT POR OUTRO.** Os controles, o conjugado e as microplacas são combinados entre si para oferecer um desempenho perfeito. Use somente reagentes fornecidos com o kit.

3. Não use componentes do kit após a data de validade impressa na caixa do kit.

4. Evite a contaminação microbiana dos reagentes ao abrir e retirar alíquotas dos frascos originais. A contaminação reduz prematuramente a vida útil dos kits e fornece resultados errôneos. Use técnicas asséptica, entre elas pipetas ou ponteiras de pipetas descartáveis para retirar alíquotas dos frascos.

5. Para evitar a contaminação cruzada, use uma ponteira de pipeta nova para cada amostra aliquotada; não toque no topo ou no fundo das tiras, na borda dos poços ou no líquido dos poços com os dedos ou com as ponteiras das pipetas.

6. Recomenda-se que a vidraria a ser usada com os reagentes seja lavada com ácido clorídrico 2M e enxaguada abundantemente com água destilada ou deionizada antes do uso.

7. Para obter os melhores resultados, deixe que todos os reagentes e amostras atinjam a temperatura ambiente (25°C ± 3°C) antes do uso. Imediatamente após o uso, volte a armazenar entre 2°C e 8°C.

8. Use somente água de qualidade reagente, deionizada ou destilada, para diluir os reagentes.

9. Todos os reagentes devem ser bem misturados antes do uso.

10. A solução de Conjugado de Trabalho e a Solução-Tampão de Lavagem Diluída devem ser **preparadas logo antes do uso.**

11. Não exponha os reagentes, nem realize testes em áreas que contêm altos níveis de vapores de desinfetantes químicos (e.g., vapores de hipoclorito) durante as etapas de armazenamento ou de incubação. O contato inibe a reação colorida. Da mesma forma, não exponha os reagentes à luz intensa.

12. Não retire as microplacas das bolsas de alumínio até imediatamente antes do uso. As tiras abertas, não usadas, devem ser conservadas entre 2°C e 8°C em suas bolsas de armazenamento com o dessecante fornecido.

13. Em cada processamento de amostras de pacientes deve-se testar os controles do kit em paralelo.

14. Deve tomar-se o cuidado de não tocar ou respingar a borda do poço com conjugado. Não sopre na micropipeta. Recomenda-se usar pipetagem reversa sempre que possível.

15. A utilização de amostras muito hemolisadas, soros com coagulação incompleta, amostras de plasma que contenham fibrina ou amostras com contaminação microbiana pode fornecer resultados errôneos.

16. **NÃO USE BANHO-MARIA PARA INCUBAR AS PLACAS.**

17. Não use incubadoras de CO_2

18. Durante a incubação a 37°C, deve-se evitar a evaporação. Cubra as placas com as tampas adesivas fornecidas.

19. Evite abrir e fechar repetidamente a porta da incubadora durante as etapas de incubação.

20. Não mantenha a solução de interrupção em recipiente raso nem a retorne ao frasco após o uso.

21. Verifique se o fundo da placa está limpo e seco e se não há bolhas na superfície do líquido antes de iniciar a leitura da placa. Remova todas as bolhas da placa, e.g. por pancadas leves.

22. Se usar equipamento automático, confira se está aferido antes do uso.

23. É altamente recomendável fazer a manutenção de rotina do sistema de aspiração e lavagem para evitar contaminação por passagem de amostras muito reativas para amostras não reativas.

INSTRUÇÕES DE ARMAZENAMENTO

1. Conserve o kit ELISA IgM HEV MPD e seus componentes entre 2°C e 8°C quando não estiver sendo usado.
2. Todos os reagentes e microplacas do teste permanecem estáveis até a data de validade fornecida no kit, se conservados entre 2°C e 8°C. Não congele os reagentes.
3. Quando o Concentrado (20x) para lavagem de placas (20x) é mantido entre 2°C e 8°C pode ocorrer formação de cristais. Estes deverão ser dissolvidos por aquecimento a 37°C antes do uso.
4. Pode ocorrer formação de precipitado quando o Diluente é conservado entre 2°C e 8°C. Isto não afetará o desempenho do kit.
5. As tiras de microplacas abertas e não usadas, devem ser mantidas em bolsa fechada, com o dessecante fornecido, entre 2°C e 8°C.

COLETA, TRANSPORTE E ARMAZENAMENTO DE AMOSTRAS

As amostras devem ser conservadas entre 2°C e 8°C se o teste for realizado dentro de sete dias após a coleta, ou congelados a -20°C se for previsto que o teste será realizado em mais de sete dias após coleta. As amostras límpidas, não hemolisadas, são preferíveis. Amostras lipêmicas, ictéricas ou contaminadas (partículas) devem ser filtradas (0,45µm) ou centrifugadas antes do teste.

Os soros dos pacientes podem ser inativados, mas esta não é uma exigência para o perfeito desempenho do teste.
Inative da seguinte forma:

1. Afrouxe as tampas dos recipientes de soro.
2. Aqueça o soro a 56°C durante 30 minutos em banho-maria.
3. Deixe o soro esfriar antes de apertar novamente as tampas.
4. O soro pode ser mantido congelado até a análise.

Recomendamos que os soros dos pacientes não sejam submetidos a vários ciclos de congelamento e descongelamento.

MATERIAL ADICIONAL NECESSÁRIO, MAS NÃO FORNECIDO

1. Papel absorvente para forrar bancadas e toalhas de papel.
2. Tubos ou recipientes de polipropileno.
3. Pipetas graduadas: 5 ml, 10 ml.
4. Pipetador multicanal capaz de distribuir 50 µl, 100 µl, e 200 µl.
5. Pipetador capaz de distribuir 1-1000 µl.
6. Ponteiras de pipetas descartáveis
7. Recipientes (cubas) de reagentes com capacidade para 25 ml.
8. Água deionizada ou destilada, qualidade reagente.
9. Frascos: 500 ml, 1 litro.
10. Uma incubadora a 37°C.
11. Um leitor de microplacas de comprimento de onda duplo (A_{450}-A_{620}) ou simples (A_{450})
12. Solução de hipoclorito de sódio (5%) ou água sanitária para uso doméstico.

PREPARAÇÃO DOS REAGENTES

1. CONJUGADO DE TRABALHO

a. O CONJUGADO DE TRABALHO deve ser **preparado logo antes do uso.**
b. Para preparar o conjugado diluído, faça uma diluição a 1:200 do conjugado com o diluente fornecido no kit.
c. Use exclusivamente recipientes ou tubos de polipropileno.
d. Consulte o protocolo para preparação de conjugado de trabalho.

PROTOCOLO DE PREPARAÇÃO DE CONJUGADO

Número de testes	Vol. de Conjugado (µl)	Vol. de Diluente (ml)
24	15	3,0
48	30	6,0
72	45	9,0
96	60	12,0

2. SOLUÇÃO-TAMPÃO DE LAVAGEM DILUÍDA

a. A SOLUÇÃO-TAMPÃO DE LAVAGEM DILUÍDA deve ser **preparada logo antes do uso.**
b. Dilua 1 volume de CONCENTRADO PARA LAVAGEM DE PLACAS com 19 volumes de água destilada (qualidade reagente). Misture bem. Para lavar uma placa são necessários aproximadamente 400 ml de solução-tampão para lavagem de placas.

PROCEDIMENTO DO TESTE

IMPORTANTE:- Os imunoensaios desta natureza são sensíveis à temperatura e dependentes do tempo. É necessário seguir à risca os procedimentos do teste para garantir um desempenho perfeito. Alterações em relação ao procedimento recomendado podem acarretar resultados anômalos.

1.	Remova a microplaca da bolsa de alumínio.	
2.	Agite os frascos de amostras e de controle antes do uso.	
3.	Preencha um recipiente de reagente com **DILUENTE.** Usando um pipetador multicanal, adicione 200 µl de **DILUENTE** em todos os poços.	200 µl
4.	Os poços A1 e B1 são '**BRANCOS' - NÃO ADICIONE AMOSTRAS A ESTES POÇOS.** Acrescente 10 µl adicionais de diluente a estes poços.	10 µl
5.	Acrescente 10 µl de amostra ao poço designado, começando pelo poço H1. Isto resultará em uma concentração final da amostra de 1:21. **NÃO COLOQUE AMOSTRA EM UM POÇO VAZIO.**	10 µl
6.	Após adicionar a amostra a ser analisada, acrescente 10 µl/poço de **CONTROLE NÃO REATIVO** a cada um dos poços C1, D1 & E1.	10 µl
7.	Adicione 10 µl de **CONTROLE REATIVO** por poço aos poços F1 e G1. Misture bem batendo levemente em todos os lados da microplaca, tendo o cuidado de manter a placa plana sobre a bancada.	10 µl
8.	Para evitar evaporação durante a incubação, cubra cuidadosamente a microplaca com uma tampa de placa fornecida.	
9.	**Incube durante 30 minutos a 37°C (não utilize banho-maria a 37°C para a incubação).**	30 minutos
10.	Antes de lavar a microplaca, prepare o **CONJUGADO DE TRABALHO** conforme descrito em **PREPARAÇÃO DE REAGENTES.**	
11.	Remova e descarte a tampa da placa; lave então a microplaca com **SOLUÇÃO-TAMPÃO DE LAVAGEM DILUÍDA** usando um dos dois métodos recomendados.	300 µl por poço x 6
	A. Lavadora Automática ou Semi-Automática de Microplacas - Lave seis (6) vezes com pelo menos 300 µl por poço e por lavagem.	
	B. Lavadora Manual de Microplacas - Aspire completamente o conteúdo de todos os poços, levando suavemente a ponta do aspirador até o fundo de cada poço. **CUIDADO PARA NÃO ARRANHAR A SUPERFÍCIE INTERNA DO POÇO.** Preencha toda a placa com pelo menos 300 µl/poço, e depois aspire imediatamente na mesma ordem. Execute este ciclo seis (6) vezes.	
12.	Seque completamente invertendo a microplaca sobre papel absorvente e dando batidas firmes na placa. Toda a solução-tampão de lavagem residual da placa deve ser completamente eliminada. Se houver resíduos de solução-tampão de lavagem na placa, poderá ocorrer inibição de desenvolvimento de cor durante a incubação do substrato.	
13.	Preencha um recipiente de reagente com **CONJUGADO DE TRABALHO.** Usando um pipetador multicanal, adicione 100 µl de **CONJUGADO DE TRABALHO** a cada poço. Coloque outra tampa de placa.	100 µl
14.	**Incube a microplaca durante 30 minutos a 37°C (não utilize banho-maria a 37°C para a incubação).**	30 minutos
15.	Remova e descarte a tampa da placa. Repita o procedimento de lavagem como nas etapas 11 e 12.	300 µl por poço x 6
16.	Preencha um recipiente de reagente com **SOLUÇÃO DE SUBSTRATO.** Usando um pipetador multicanal, adicione 100 µl de **SOLUÇÃO DE SUBSTRATO** a cada poço. Coloque uma tampa de placa.	100 µl
17.	Incube durante 15 minutos em local escuro e à temperatura ambiente (25 ± 3°C).	15 minutos
18.	Remova e descarte a tampa da placa.	
19.	Usando um pipetador multicanal, adicione 100 µl de **SOLUÇÃO DE INTERRUPÇÃO** a cada poço. Misture suavemente batendo na placa.	100 µl
20.	Determine a absorbância de cada poço a 450 nm. Caso seja usado um instrumento de filtro duplo, o comprimento de onda de referência deve ser de 620 nm.	

NOTA: A absorbância deve ser lida no prazo de 10 minutos após a adição da SOLUÇÃO DE INTERRUPÇÃO

CONTROLE DE QUALIDADE

1. Em todas as placas de todos os processamentos de amostras, deve-se testar o BRANCO e o CONTROLE REATIVO em duplicata e o CONTROLE NÃO REATIVO em triplicata.

2. Os valores de absorbância do Branco devem ser ≤ 0,100.

3. Os valores de absorbância do Controle Não Reativo devem ser ≤ 0,100 depois de subtraído o Branco.

4. Cada um dos 2 valores do Controle Reativo deve ser ≥ 0,500 depois de subtraído o branco.

5. Para que o teste seja válido, a diferença entre as absorbâncias médias do Controle Reativo e do Controle Não Reativo ($RC\bar{x}$ - $NRC\bar{x}$) deve ser igual ou maior que 0,400. Caso contrário, a técnica pode ser colocada sob suspeita e o teste deverá ser repetido. Caso a $RC\bar{x}$ - $NRC\bar{x}$ seja sempre baixa, pode ter ocorrido deterioração dos reagentes.

RESULTADOS

Cada microplaca deve ser considerada em separado para o cálculo e a interpretação dos resultados do teste, independentemente do número de placas processadas.

OS VALORES MÉDIOS DE ABSORBÂNCIA DO BRANCO DEVEM SER SUBTRAÍDOS DOS VALORES DE ABSORBÂNCIA DOS CONTROLES E DAS AMOSTRAS ANTES DA INTERPRETAÇÃO DOS RESULTADOS.

A presença ou ausência de anticorpos IgM específicos para HEV é determinada comparando a absorbância das amostras com o VALOR LIMITE da placa.

O VALOR LIMITE para o ELISA IgM HEV MPD é calculado como sendo 0,400 + a absorbância média do Controle Não Reativo.

CÁLCULO DOS RESULTADOS

1. Cálculo da Absorbância Média do Controle Não Reativo ($NRC\bar{x}$)

Exemplo:	Poço N°.	Absorbância
	C1	0,010
	D1	0,012
	E1	0,008
	Total	0,030
	Média	0,030 / 3 = 0,010 ($NRC\bar{x}$)

Os valores de Controle Não Reativo devem ser inferiores ou iguais a 0,100 unidades. Caso algum valor do Controle Não Reativo não satisfaça qualquer um dos critérios anteriores, deve ser excluído como anormal. A média do Controle Não Reativo ($RC\bar{x}$) deve ser então recalculada usando-se os valores restantes de Controle Não Reativo. Todos os restantes valores de Controle Não Reativo devem satisfazer os critérios anteriores ou o teste será considerado inválido e deverá ser repetido.

2. Cálculo da Absorbância Média do Controle Reativo ($RC\bar{x}$)

Exemplo:	Poço N°.	Absorbância
	F1	0,758
	G1	0,732
	Total	1,490
	Média	1,490 / 2 = 0,745 ($RC\bar{x}$)

Os valores de Controle Reativo devem ser, mas maiores ou iguais a 0,500 unidades. Caso um valor do Controle Não Reativo não satisfaça ambos os critérios anteriores, o teste é inválido e deve ser repetido.

3. Cálculo da diferença entre $RC\bar{x}$ e $NRC\bar{x}$.

Exemplo:		
	$NRC\bar{x}$	= 0,010
	$RC\bar{x}$	= 0,745
	$RC\bar{x}$-$NRC\bar{x}$	= 0,745 - 0,010
		= 0,735

Para que o teste seja válido, o valor de $RC\bar{x}$ - $NRC\bar{x}$ deve ser igual ou superior a 0,400. Caso contrário, deve-se suspeitar que a técnica tenha sido incorreta ou que houve deterioração de reagentes e o teste deverá ser repetido.

4. Cálculo do valor LIMITE

	Valor LIMITE	= 0,400 + $NRC\bar{x}$
Exemplo:	$NRC\bar{x}$	= 0,010
	Valor LIMITE	= 0,400 + 0,010
		= 0,410

INTERPRETAÇÃO DOS RESULTADOS

1. Amostras com valores de absorbância **inferiores** ao valor LIMITE são consideradas **Não Reativas** pelo ELISA IgM HEV MPD.
2. Amostras com valores de absorbância **iguais ou superiores** ao valor LIMITE são consideradas **inicialmente reativas** pelos critérios do ELISA IgM HEV MPD e devem ser novamente analisadas em duplicata antes da interpretação.
3. Amostras reativas na segunda análise devem ser interpretadas como **repetidamente reativas** para anticorpos IgM para HEV pelos critérios do ELISA IgM HEV MPD.
4. Amostras inicialmente reativas e que se comportam como **Não Reativas** quando analisadas pela segunda vez são consideradas **negativas** pelos critérios do ELISA IgM HEV MPD.

CARACTERÍSTICAS ESPECÍFICAS DE DESEMPENHO

Especificidade e Sensibilidade
A detecção de viremia em amostras de sangue ou de fezes durante a fase inicial da infecção tem sido usada para revelar a presença de hepatite E. Contudo, a detecção de viremia só poderá ter sucesso se as amostras fecais ou de soro forem coletadas com antecedência suficiente, de preferência durante os 14 primeiros dias após o aparecimento dos sintomas (12). Tendo como fundamento a detecção de viremia, a sensibilidade do ELISA IgM HEV MPD foi determinada com base na capacidade de detectar o número de positivos neste conjunto bem caracterizado de soros. Foram coletadas 152 amostras dentro do período de 14 dias e 141 delas foram reativas pelo ELISA IgM HEV MPD, o que representa uma sensibilidade de 93 %.

A soropositividade em indivíduos sadios de populações de baixo risco tende a ser bastante baixa, aproximadamente ≤1 %, ao passo que a soropositividade em indivíduos saudáveis dentro de áreas endêmicas tende a ser um pouco mais elevada. A soropositividade indica uma exposição recente ao vírus da hepatite E.

LIMITAÇÃO DO MÉTODO

Resultados repetidamente reativos do ELISA IgM HEV MPD constituem indicações da presença de anticorpos IgM para HEV na amostra. Um resultado **NÃO-REATIVO** do ELISA IgM HEV MPD indica provável ausência de IgM detectáveis para HEV na amostra. Um resultado **NEGATIVO** não exclui a possibilidade de exposição a ou de infecção pelo HEV.

Pode-se suspeitar de resultados falsos reativos com um kit para testes desta natureza. A proporção de falsos reativos dependerá da sensibilidade e da especificidade do kit de teste. Para a maioria dos testes para diagnóstico, quanto mais elevada a prevalência de anticorpos na população, menor será a proporção de amostras falsas reativas.

Estudos realizados internamente mostraram que a presença do fator reumatóide (FR) ou títulos elevados de IgG não afetam o desempenho do ELISA IgM HEV MPD. O uso de métodos para remoção de IgG (e.g. RFRR) que exigem diluição da amostra, pode afetar a sensibilidade do ELISA IgM HEV MPD.

ISENÇÃO DE RESPONSABILIDADE EXPLÍCITA E LIMITADA

O fabricante não oferece nenhuma outra garantia expressa senão a de que o kit de teste funcionará como um ensaio de diagnóstico *in vitro* dentro das especificações e limitações descritas no Manual de Instruções do produto quando usado em conformidade com as instruções nele contidas. O fabricante isenta-se de qualquer responsabilidade, expressa ou implícita, incluindo as garantias expressas ou implícitas em relação à capacidade de comercialização, de utilização ou utilidade implícita para quaisquer outros fins. A responsabilidade do fabricante limita-se à substituição do produto, ou ao reembolso do preço de compra do produto. O fabricante não será considerado responsável pelo comprador ou por terceiros por quaisquer danos, prejuízos ou perdas de caráter econômico causados pelo uso ou aplicação do produto. O fabricante não faz nenhuma declaração, expressa ou implícita, que este produto não infringirá os direitos de propriedade intelectual de terceiros.

PROBLEMAS TÉCNICOS E QUEIXAS

Caso haja algum problema técnico ou queixa, solicitamos proceder da seguinte forma:
1. Anote o número de lote do kit e a data de validade.
2. Conserve o kit e os resultados obtidos.
3. ontate o escritório MP Biomedicals mais próximo ou o seu distribuidor local.

REFERÊNCIAS

1. Bradley, D.W. 1990. Enterically-transmitted non-A, non-B hepatitis. pp 442-461. In A.J. Zuckerman (ed) British Medical Bulletin 46(2). Churchill Livingstone, New York.

2. Purcell, R.H. and J.R. Ticehurst. 1988. Enterically transmitted non-A, non-B hepatitis: Epidemiology and clinical characteristis. pp. 131-137. In A.J. Zuckerman (ed). Viral Hepatitis and Liver Disease. Alan R. Liss Inc., New York.

3. Moaven, I.D., A.J. Fuller, J.C. Doultree, J.A. Marshall, D.S. Bowden, R.A. Moeckli and S.A. Locarnini. 1993. A case of acute hepatitis E in Victoria. Medical Journal of Australia 159; 124-125.

4. Skidmore, S.J., P.O. Yarbough, K.A. Gabor, A.W. Tam, G.R. Reyes, A.J.E. Flower. 1991 Imported hepatitis E in UK. The Lancet 337;1541.

5. Dawson, G.J., I.K. Mushahwar, K.H. Chau, G. l. Gittnick. 1992. Detection of long-lasting antibody to hepatitis E virus in a US traveller to Pakistan. The Lancet 340;426.

6. Reyes, G.R., M.A. Purdy, J.P. Kim, K.C. Luk, l.M. Young, K.E. Fry, and D. Bradley. 1990. Isolation of a cDNA from the virus responsible for enterically-transmitted non-A, non-B hepatitis. Science 247: 1335.

7. Yarbough, P.O., A.W. Tam, K.E. Fry, K. Krawczynski, K.A. McCaustland, D.W. Bradley and G.R. Reyes. 1991. Hepatitis E virus: Identification of type-common epitopes. Journal of Virology 65: 5790.

8. Goldsmith, R., P.O. Yarbough, K.E. Fry, K.A. Gabor, M. Kamel, S. Zakaria, S. Amer, Y. Gaffar. 1992. Enzyme-linked immunosorbent assay for diagnosis of acute sporadic hepatitis E in Egyptian children. The Lancet 339;328-331.

9. Lee, S.D., Y.J. Wang, R.H. Lu, C.Y. Chan, K.J. Lo, R.A. Moeckli. 1993. Seroprevalence of Antibody to Hepatitis E Virus among Chinese Subjects in Taiwan. Hepatology Vol 19, No. 4, 1994.

10. Balayan, M.S. 1991. HEV Infection : Historical Perspectives, Global Epidemiology, and Clinical Features. In F.B. Hollinger, S.M. Lemon, and H. Margolis (editor), Viral Hepatitis and Liver Disease. Williams & Wilkins, Baltimore.

11. Uchida, T., et al. 1991. Virulence of Hepatitis E virus with Serial Passage to Cynomolgus Monkeys and Identification of Viremia. In F.B. Hollinger, S.M. Lemon, and H. Margolis (editor), Viral Hepatitis and Liver Disease. Williams & Wilkins, Baltimore.

12. Edward T Clayson, Khin Saw Aye Myint, Rapin Snitban, David W Vaughn, Bruce l Innis, Lily Chan, Peter Cheung, Mrigendra P Shrestha. Viremia, Fecal Shedding, and IgM and IgG Responses in Patients with Hepatitis E. Journal of Infectious Diseases 1995 :172-927-33.

MP Biomedicals Asia Pacific Pte Ltd.
85 Science Park Drive
#04-01, The Cavendish
Singapore Science Park
Cingapura 118259
Tel N°. : + 65 6775 0008
Fax N°. : + 65 6775 4536
E-mail : enquiry_ap@mpbio.com

EC REP

Medical Technology Promedt
Consulting GmbH
Altenhofstrasse 80
D-66386 St. Ingbert
Alemanha
Tel N°. : + 49 68 94 58 1020
Fax N°. : + 49 68 94 58 1021
E-mail : info@mt-procons.com

Escritórios Regionais:

MP Biomedicals Suisse S.A.
Halle de Fret/Aeroport
P.O. Box 1015
1211 Genebra 5
Suíça
Tel N°. : (4122) 788-1908
Fax N°. : (4122) 788-1986
E-mail: mpbiosuisse@mpbio.com

* Patente EUA	5,741,490; 5,770,689; 5,885, 768; 5,686,239
* Patente Cingapura	39445, 49225
* Austrália	644878
* Taiwan	63167
* Coréia do Sul	178399, 180530

* Outras patentes pendentes

* O nome e o logotipo Genelabs são licenciados da Genelabs Technologies, Inc.